

**Ortho-methoxy-cinnamic aldehyde use as anti-microbial agent - to prevent denaturation of food and feedstuffs, paper, fibres, paints, etc.**

**Patent Assignee:** KUREHA KAGAKU KOGYO KK

**Inventors:** KAWASAKI T; NAGANE S; NAGANE Y; SATO M

#### Patent Family (11 patents, 5 countries)

| Patent Number | Kind | Date     | Application Number | Kind | Date     | Update | Type |
|---------------|------|----------|--------------------|------|----------|--------|------|
| DE 3003096    | A    | 19800731 | DE 3003096         | A    | 19800129 | 198032 | B    |
| JP 55100302   | A    | 19800731 | JP 19798900        | A    | 19790129 | 198037 | E    |
| JP 55100303   | A    | 19800731 | JP 19798902        | A    | 19790129 | 198037 | E    |
| JP 55102380   | A    | 19800805 | JP 19798901        | A    | 19790129 | 198037 | E    |
| NO 198000194  | A    | 19800825 |                    |      |          | 198038 | E    |
| GB 2045596    | A    | 19801105 |                    |      |          | 198045 | E    |
| FR 2447154    | A    | 19800926 |                    |      |          | 198046 | E    |
| JP 1982001221 | B    | 19820109 |                    |      |          | 198205 | E    |
| JP 1982026643 | B    | 19820605 |                    |      |          | 198226 | E    |
| JP 1982026644 | B    | 19820605 |                    |      |          | 198226 | E    |
| GB 2045596    | B    | 19830803 |                    |      |          | 198331 | E    |

**Priority Application Number (Number Kind Date):** JP 19798902 A 19790129; JP 19798901 A 19790129; JP 19798900 A 19790129

#### Alerting Abstract: DE A

o-Methoxy-cinnamaldehyde, (I), is used as a protective agent for industrial materials or prods. which are denatured by microorganisms.

The use of (I) in protecting food materials or prods., esp. animal feedstuffs, is claimed. Other protected materials are paint media, leather, pigments, fibres, paper, building materials, cosmetics, petroleum, metal adhesives including pastes, plastics, electronic instrument materials, agricultural prods. and waste waters. (I) combine (i) strong anti-microbial activity against microorganisms which cause the denaturation of industrial materials with (ii) very low toxicity to animals.

**International Classification (Main):** A01N-035/02 **(Additional/Secondary):** A23B-004/14, A23B-007/14, A23K-001/16, A23K-003/00, A23L-003/34, A61K-007/00, A61L-013/00, C07C-047/47

#### Original Publication Data by Authority

##### Germany

Publication Number: DE 3003096 A (Update 198032 B)

Publication Date: 19800731

\*\*Verwendung von o-Methoxyzimtaldehyd als Schutzmittel fuer Materialien oder Produkte, die durch die Wirkung von Mikroorganismen denaturiert werden\*\*

Assignee: Kureha Kagaku Kogyo K.K., Tokio (KURE)

Inventor: Sato, Masaki, Sagamihara, Kanagawa Nagane, Yasushi, Tokio Kawasaki, Takao, Sayama, Saitama, JP

Agent: Deufel, P., Dipl.-Chem. Dipl.-Wirtsch.-Ing. Dr.rer.nat.; Schoen, A., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Hertel, W., Dipl.-Phys., Patentanwaelte, 8000 Muenchen

Language: DE

Application: DE 3003096 A 19800129 (Local application)

Priority: JP 19798900 A 19790129 JP 19798901 A 19790129 JP 19798902 A 19790129

Original IPC: A01N-35/02 A23B-4/14 A23B-7/14 A23K-1/16 A23K-3/00 A23L-3/34 A61K-7/00

A61L-13/00 C07C-47/47

Current IPC: A01N-35/02 A23B-4/14 A23B-7/14 A23K-1/16 A23K-3/00 A23L-3/34 A61K-7/00 A61L-13/00 C07C-47/47

Claim: \* 1. Verwendung von o-Methoxyzimtaldehyd als Schutzmittel fuer Materialie n oder Produkte, die durch die Wirkung von Mikroorganismen denaturiert werden.

#### France

Publication Number: FR 2447154 A (Update 198046 E)

Publication Date: 19800926

Language: FR

#### Great Britain

Publication Number: GB 2045596 A (Update 198045 E)

Publication Date: 19801105

Language: EN|GB 2045596 B (Update 198331 E)

Publication Date: 19830803

Language: EN

#### Japan

Publication Number: JP 55100302 A (Update 198037 E)

Publication Date: 19800731

\*\*MICROORGANISM GROWTH RETARDER FOR INDUSTRIAL USE\*\*

Assignee: KUREHA CHEM IND CO LTD

Inventor: SATO MASAKI NAGANE SHIGERU KAWASAKI TAKAO

Language: JA

Application: JP 19798900 A 19790129 (Local application)

Original IPC: A01N-35/02

Current IPC: A01N-35/02(A)|JP 55100303 A (Update 198037 E)

Publication Date: 19800731

\*\*MICROORGANISM GROWTH RETARDER FOR ANIMAL FEED\*\*

Assignee: KUREHA CHEM IND CO LTD

Inventor: KAWASAKI TAKAO SATO MASAKI NAGANE SHIGERU

Language: JA

Application: JP 19798902 A 19790129 (Local application)

Original IPC: A01N-35/02

Current IPC: A01N-35/02(A)|JP 55102380 A (Update 198037 E)

Publication Date: 19800805

\*\*INDUSTRIAL AGENT FOR CONTROLLING GROWTH OF BACTERIA\*\*

Assignee: KUREHA CHEM IND CO LTD

Inventor: KAWASAKI TAKAO SATO MASAKI NAGANE SHIGERU

Language: JA

Application: JP 19798901 A 19790129 (Local application)

Original IPC: A23L-3/34

Current IPC: A23L-3/34(A)JP 1982001221 B (Update 198205 E)

Publication Date: 19820109

Language: JA|JP 1982026643 B (Update 198226 E)

Publication Date: 19820605

Language: JA|JP 1982026644 B (Update 198226 E)

Publication Date: 19820605

Language: JA

#### Norway

Publication Number: NO 198000194 A (Update 198038 E)

Publication Date: 19800825

Language: NO

Derwent World Patents Index

© 2006 Derwent Information Ltd. All rights reserved.

Dialog® File Number 351 Accession Number 1949306

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭55—102380

⑬ Int. Cl.<sup>1</sup>  
A 23 L 3/34

識別記号

府内整理番号  
6714-4B

⑭ 公開 昭和55年(1980)8月5日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 6 頁)

⑮ 工業用微生物発育抑制剤

⑯ 特 願 昭54-8901  
⑰ 出 願 昭54(1979)1月29日  
⑱ 発明者 川崎隆夫  
狹山市水野532-27  
⑲ 発明者 佐藤正喜

相模原市東大沼2-30-6

長根尉

東京都板橋区高島平3-11-7

⑳ 出願人 吳羽化学工業株式会社  
東京都中央区日本橋堀留町1丁目8番地

㉑ 代理人 弁理士 宮田広豊 外1名

明細書

1. 発明の名稱

食品用微生物発育抑制剤

2. 特許請求の範囲

(1) オルト-メトキシシンナムアルデヒドを有効成分とする食品用微生物発育抑制剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、オルト-メトキシシンナムアルデヒドを有効成分とする食品用微生物発育抑制剤に関するものである。

本発明は、例えば魚肉、畜肉製品、醤油製品(バター、チーズ、マーガリン、雁卵、ショウエイ)、アン、伝葉類、メンケ、その他の食品の微生物の障害に対する有用な微生物発育抑制剤を提供することを目的とするものである。

今日の我々の食生活の変化は、食品の簡便化、規格化の面に最も顕著にあらわれている。この傾向は都市への人口集中、人手不足等の諸事情から

止むを得ない現象であるが、このため栄養価の高い、衛生的な加工食品をより安く、より大量に造ることが要求されるのであり、これには先ず食品の保存の問題を従来にも増して実質的に検討せねばならない。

従来より様々な物質、たとえばソルビン酸、デヒドロ酢酸、サリチル酸、ニトロフランなどが食品の防腐剤として使用されてきたが、あるものはその毒性の故に、またあるものは保存効果の不足のために満足すべき防腐剤とは云い難かつた。また、コールドチャーンの充実化や、防腐剤を使用しない防腐法、たとえば放射能による殺菌法なども考案されているが、それぞれに問題が多く、また省資源的な見地からも防腐剤添加に利があることは云うまでもない。このため現実の問題として保存能力のすぐれた、安全な防腐剤の開発が各方面から切望されていた。

このような観点から、本発明者は、天然生系

中から高活性の抗酸性物質を見出すべく調査努力を重ねてきたが、すでに抗真菌剤として特許出願した（特許昭52-139717）桂皮の成分、オルトメトキシシンナムアルデヒドが、食品の腐敗原因に強力な抵抗力を有し、優れた防腐効果を示すことを知りて本発明をなすに至つた。

即ち、本発明のオルトメトキシシンナムアルデヒドは、従来色紺品であり、パチス、ズブテルス、パチス・セレクス、パチス・ミコイデス、クロストリジウム・バーフリンギヌに対しても培地中濃度0.01%～0.05%で生育を完全に抑制する。

この効果は、例えばニトロフランの如き食肉防腐剤と比較すると決して優れたものとは云えないと、安全な食品防腐剤として世界的に重用されている天然由来のソルビン酸と比較すると本発明物質の優位性は顯著としている。ソルビン酸の各細胞に対する遮育阻止濃度は0.1～0.2%で

芳開昭55-102380(2)あり、しかも添加対象物のpHが7以上になり、ソルビン酸がイオン化した状態になると、その効果は更に1/3～1/5に低下してしまう。このため、たとえばカマボコの如く弹性を出すためにアルカリ性での内包埋が必要な食品ではソルビン酸の効果は殆んど期待出来ず、ソルビン酸の効果を出すために酸性側で内包埋をするといわゆるアシの弱い、弾力のない醸造品となってしまう。  
3-3114  
3-3115

これに對し本発明のオルトメトキシシンナムアルデヒドは、イオン化する實験並をもたないため、活性の如何にかかわらずに安定した防腐効果を示し、広範な用途が期待出来る。

以下、本発明のオルトメトキシシンナムアルデヒド（以下本物質といふ）について詳説する。本物質の天然産の原料として用いられる桂皮末はクヌキ科のシナモマム属 (*Cinnamomum*) に属するもので主として日本、東南アジア、中国南部、インドなどに分布している植物から調製されるも

- 3 -

- 4 -

のであつてその強い芳香性のために芳香性殺菌剤、焼却消毒剤として広く世界的に使用され、また、中国においては既往、解熱、鎮痛剤として實用古來といふ。

このように桂皮末は広い殺菌作用を示すばかりでなく、人体に対して極めて安全なものであり、しかも生薬量も多いので医薬として有効である。しかるに、桂皮末は上述したように広い殺菌作用を示すもののその有効成分については必ずしも明らかにされていない。

本発明者は、桂皮末よりの抽出物について検討を繰り返し行うことにより得られる有用成分がオルトメトキシシンナムアルデヒドであることを突きとめた。この物質は天然物の成分であり、人体に対して殆ど副作用を示さない。

桂皮末は上述した植物体の樹皮、桂皮、材木などいわゆる用いて乾燥したものでもよい。

桂皮末から上記活性成分を得るには、粉砕化し

た桂皮末を有機溶剤で抽出し、粗縞して粗抽出物を得、ついでこれを以下に述べるようにして精製するといふ。なお、ここで有機溶剤は一般抽出用のものが広く通用できる。

上記粗抽出物をシリカゲル、活性アルミニウムの吸着剤を充填したカラムクロマトグラフィー、又は層析クロマトグラフィー等の分離手続の組合せによりヨウヘキサン、ベンゼン、クロロホルム、メタノールなどの溶剤を用いて溶出分離し、ついで溶剤をドライアイスしてシリップ状物質を得る。更に、ほんしくは、上記の操作を数回くり返して行い、最終的に得られたシリップ状物質を再結晶化して目的物を得る。

上述のようにして得られる本物質の融点は45～46℃、沸点は295℃であり、元素分析値、赤外線吸収スペクトル、顕微鏡的観察によると本物質は、下記式に示すオルトメトキシシンナムアルデヒドであると推定される。

- 5 -

- 6 -



七とて本発明者等は、これを更に縮かめるために、オルト-メトキシベンツアルデヒドとアセトアルデヒドを反応させ、得られる反応生成物を酸化して、沸点100～130°C/3mmHgの部分を分取し、再結晶して得られた合成就によるオルト-メトキシシナムアルデヒドと、上述したようにして桂皮末より抽出、精製、分離された本物質とを比較したところ、それらの元素分析値、赤外吸収スペクトル、融点測定値は両者とも一致しており、かつ濃度試験においても融点低下はまったく認められなかつた。

上記比較試験の結果により、被皮中に存在する有効成分は先に推定したとかくオルト-メトキシシナムアルデヒドであることが確認された。本物質であるオルト-メトキシシナムアルデヒドは次のような特性を有する。

- 7 -

これらの結果から、本物質は多量に投与しても安全であることが判る。なお、本物質の投与1週間後、解剖したが外観的及び内臓組織においても特記すべき異常所見を認めなかつた。又、特記すべき中毒症状も認められなかつた。

更に、亜急性毒性を知るために本物質を経口投与で100mg/kg、経皮投与で250mg/kg 3ヶ月間連日投与しても死亡、異常が認められなかつた。

第1表 亜急性毒性

| 試 料                        | ルート            | マウス数 | LD <sub>50</sub> (mg/kg) |
|----------------------------|----------------|------|--------------------------|
| 粗 推 出 物                    | 経口投与<br>(g.e.) | 10   | 12000                    |
| オルト-メトキシシナムアルデヒド<br>(g.e.) | 経口投与<br>(g.e.) | 10   | 4430                     |
| 肉 上                        | 経皮投与<br>(g.e.) | 10   | 8670                     |

### (1) 物 性

融 点 45～46°C

沸 点 295°C

150～161°C (12mmHg)

溶 解 性 メタノール、エタノール、アセトン、ベンゼン、クロロホルムに溶解し、水に不溶しない。

### (2) 亜急性毒性及び亜急性毒性

オルト-メトキシシナムアルデヒドをソイーン80(アトラスパウダー社製)1回と生理食塩水2部の混合液に懸濁し、実験動物として市販ICR-JCL系雄マウス(体重22±1.8g)を用い、経皮投与(p.e.)ならびに経口投与(p.o.)ICより1週間後にかけた生死を判定してリツチフィールド・ワイルコグタソン(Litchfield-Wilcoxon)法からLD<sub>50</sub>を求めて第1表のような結果を得た。なお、比較のために前記粗抽出物についても同様にしてLD<sub>50</sub>を求めた。

- 8 -

### (3) 調査スペクトル

供試化合物: 本物質及び対照としてソルビン酸カリウムを用いた。  
本物質を微粉砕したのち1%CMC溶液に懸濁し、これを原液として培地に添加した。

抗腫瘍効果方法: pH7の試薬したハートイソフュージョン培地に供試化合物を所定の濃度になるよう溶解して平板を作成した。37°Cで1昼夜斜面培養した細胞1白金耳を9mmの生理食塩水中に懸濁し、その懸濁液の1白金耳を平板に塗沫し、37°C、48時間培養し観察した。當法にしたがつて東小野有記述濃度を求めた。結果を第2表に示す。

- 9 -

- 10 -

| 供試菌名  | 最小抑菌浓度 (MIC)    |            |
|---|-----------------|------------|
|   | オルトメトキシシナムアルブヒド | クロストリギウム   |
| バチルス・ズブナムス<br>( <i>Bacillus subtilis</i> )              | 1000 μg/ml      | 1000 μg/ml |
| バチルス・セレウス<br>( <i>Bacillus cereus</i> )                 | 200             | 2000 <     |
| バチルス・ミコイデス<br>( <i>Bacillus mycoides</i> )              | 200             | 2000 <     |
| プロテクス・ブルガリス<br>( <i>Proteus vulgaris</i> )              | 300             | 2000 <     |
| クロストリギウム・ペーブ<br>リングス ( <i>Clostridium perfringens</i> ) | 300             | 2000 <     |

■ ソルビン酸換算

■ ■ クロストリギウムに対するMICの測定にはpH 7 のブレイン・ヘートインキュベーション培地を使用し、37℃で嫌気培養を行ない菌液濃度2日目に観察した。

本物質は細胞に對抗作用のあることを示し / \*加入

-11-

ている。

本発明の食品用微生物発育抑制剤の適用範囲は一次加工食品、二次加工食品ならびにこれらに用いられる食品原料素材などに適用でき、調味料ややすい食品ならば特に試定されるものでない。たとえば醤油、しょうゆ、あん、味噌類、めん類、パマー、ナーズ、マーガリン等の脂肪製品類、魚肉、畜肉製品類にも適用される。

本物質の微生物抑制のための添加方法としては乳化、溶解、浸漬、便便、噴霧、注入、などの他、使用する原料の種類別法により適宜のものが選択されうる。また本物質は粉末状のままであるいはあらかじめ適宜の溶媒たとえばエタノール、プロピレンジコールなどの溶媒に溶解し、あるいは界面活性剤(CMCなど)により水に懸濁させたのちに使用することなど、目的に応じて適切な方法が用いられる。また、本物質の水に対する溶解性を向上させるために適当な溶解液

-12-

剤用、たとえば、レクロデキストリンなどを併用してもよい。

本物質の使用量は、通常0.001～0.5%が好ましくは0.1～0.5%であるが使用する原料の種類、処理法などにより適切な添加量が選択されることが可能である。

本発明のオルトメトキシシナムアルブヒドを有効成分とする食品用微生物発育抑制剤は安全にしてかつ有効に使用し得る天然由来の物質であり、更に、合成による遺伝子が可能であるため安価に供給することができ、有用性は極めて大である。7年加入実施例によつて本発明を詳細に説明する。

(以下余白)

## 実施例1 アンの保存効果

生アン1.5kgに砂糖1kgおよび本物質の粉末0.5gを加え、30分間加熱して煮沸したのち、大型シャーレIC-250gずつ分注して冷却した。これを37℃の恒温器中に保存して変敗度を観察した。結果を第3表に示す。

## 第3表

| 試験区             | 3日後  | 5日後   | 7日後   | 9日後  |
|-----------------|------|-------|-------|------|
| 無添加对照区          | 2/10 | 10/10 | -     | -    |
| ソルビン酸200ppm添加区  | 0/10 | 3/10  | 10/10 | -    |
| 本発明化合物200ppm添加区 | 0/10 | 0/10  | 0/10  | 0/10 |

変敗度  
数字は  
供試シャーレ数

## 実施例2 魚肉ソーセージの保存効果

クロカワカツキ30%，タジラ50%，スケソウ20%から成る魚肉のすり身の全量に対し、酢粉10%，味噌10%，食塩3%，水14%を加

-13-

え、これに本物質を全量に対して400 ppm、および对照としてソルビン酸カリウムをソルビン酸換算で2000 ppmを添加し、混合攪拌してから塩化ビニリデン製フィルムケーシングに充填密封し、90 °C、60分間加熱殺菌してから3.5 °Cの恒温槽内に置き実験をみた。

結果を第4表に示す。

第4表

| 保存日数<br>(日)  | 7     | 14   | 21    | 28   |
|--------------|-------|------|-------|------|
| 無添加对照区       | 20/20 | -    | -     | -    |
| ソルビン酸<br>添加区 | 1/20  | 8/20 | 20/20 | -    |
| 本物質添加区       | 0/20  | 0/20 | 2/20  | 4/20 |

数字は  $\frac{\text{腐敗本数}}{\text{全供試本数}}$

第5表 カマボコ防腐試験結果

| 保存日数<br>(日)            | 7    | 14    | 21    |
|------------------------|------|-------|-------|
| 無 添加 区                 | 2/20 | 20/20 | 20/20 |
| ソルビン酸 2000ppm<br>添 加 区 | 0/20 | 5/20  | 18/20 |
| 本物質 200 ppm<br>添 加 区   | 0/20 | 0/20  | 1/20  |

表中の数字は  $\frac{\text{腐敗本数}}{\text{試験総本数}}$

#### 実施例3 カマボコの防腐試験

アジ50kg、スケソウ50kg、の混合魚肉のス

-15-

-16-

#### 参考例1 稲皮から本物質の抽出

粉末化した局方稻皮をクロロホルムと共に20分間振搾抽出し、推出液を濃縮して粗抽出物を得る。

粗抽出物をシリカゲル（和光グルC200）充填カラムに充填させ、この粗抽出物をクロヘキサン、ベンゼン-クロロホルム混液（9:1）、クロロホルム、メタノールの各溶剤で順次的に溶出し、このうちベンゼン-クロロホルム（9:1）で溶出した部分を分取する。

更にこの部分を活性アルミニナ（和光活性アルミニナ90中性活性度1）充填カラムに充填させ、上記の各溶剤で順次的に溶出し、このうちクロロホルム溶出部分を分取する。これを更にシリカゲル薄層（メルク社製、キーゼルグルG-0.25mm厚さ）を用いベンゼンで展開し、Rf=0.4の緑色発光を有するスポット部分を引きとり、クロロホルムで抽出し、クロロホルムを留去して、淡黄色

シリコップ状物質を得る。この操作を2回くり返し、最終的に得られたシリコップを冷却して結晶化せしめ、少量のメタノールより再結晶をさせて、融点45.8 °C、元素分析値炭素74.25%、水素6.20%の結晶物（構成元素は炭素、水素および酸素）を得た。また、この結晶物の赤外線吸収スペクトルは図付の第1図に示すとおりである。

次に、上記結晶物がオルトメトキシンシナムアルデヒドであることを同定するために、次に示す方法によりオルトメトキシンシナムアルデヒドを合成し、その物性を調べた。

エタノール500mlおよび水400mlの混合中に水酸化ナトリウム10g、オルトメトキシンシナムアルデヒド50gを溶解し、得られる溶液に0~5 °Cでアセトアルデヒド40gを滴下搅拌する。滴下終了後、約2時間間温度にて搅拌を継続したのち、水400mlを加え、ベンゼンで抽出する。ベンゼン層を水洗、乾燥したのち留去し、得

-17-

-18-

（公財）農林省農業化試験場  
名 田 庄 五  
代 入 川 日 一 喜

られる赤褐色シップ状物質を減圧蒸留し、沸点  
100～130°C/3mmHg の部分を分取する。  
この部分を冷却固化せしめ、少量のメタノール上  
り再結晶せしめ無色結晶 3.6.9 g を得る。このも  
のの融点は 45.5°C で元素分析値計算 4.1.4 %、  
水素 6.1 % であった。このオルトーメトキシシ  
ンナムアルデヒドの赤外線吸収スペクトルは添付  
の第 2 図に示すとおりである。上記測定値から、  
合成されたオルトーメトキシシンナムアルデヒド  
と粗皮末より得られた上記結晶物は融点、元素分  
析値、赤外線吸収スペクトルが一致していること  
が理解される。さらには、粗皮末より得られたも  
のと合成功物とを混合法によつて調べたところ融点  
熔下は認められなかつた。

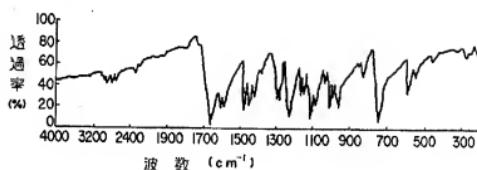
#### 4. 図面の簡単な説明

第 1 図は天然物より取得したオルトーメトキシ  
シンナムアルデヒドの赤外線吸収スペクトルを、  
第 2 図は合成法により得たオルトーメトキシシン

-19-

-20-

第 1 図



第 2 図

